

培養大脳皮質神経細胞の甲状腺ホルモン依存的なシナプス形成に 環境ホルモンが与える影響

細田律子^{1,3}、中山憲司²、川原正博^{1,3}、黒田洋一郎^{1,3}

¹東京都神経科学総合研究所 分子神経生物学研究部門、²北海道立衛生研究所 臨床病理、³CREST 科学技術振興事業団

脳の機能発達に甲状腺ホルモン(TH)が関与することは、重度の TH 欠乏がクレチン症のような精神遅滞や知能低下を引き起こすことから明らかである。発達過程の脳内では数多くの TH 応答遺伝子が発現している。このため TH 欠乏は遺伝子の秩序だった発現パターンを攪乱し、その結果脳の構造や機能に異常をもたらす可能性がある。近年多くの化学物質が動物やヒトの内分泌系に影響を与えることが報告されているが、これらのいわゆる内分泌攪乱物質の作用経路の一つとして、TH 作用系の機能を攪乱する可能性が考えられる。従って内分泌攪乱物質の抗 TH 作用あるいは TH 様作用を検討するスクリーニング法開発は有用である。そこで、我々はラット大脳皮質初代培養神経細胞のシナプス形成が細胞内 calcium level の振動(calcium oscillation)を測定することで簡便に推定できることを利用し、TH 依存的なシナプス形成に化学物質が及ぼす影響を検討した。スクリーニング対象物質として bisphenol A、フタル酸類、nonylphenol、除草剤(amitrole)、殺虫剤(permethrin、p,p'-DDT、chlordane)、トリブチルスズなどを用いた。またそれぞれの化学物質について、培養神経細胞に対する細胞毒性の検討も行った。その結果、検討した化学物質の多くが、細胞毒性の認められない濃度で TH 依存的な calcium oscillation 頻度の増加作用を抑制した。このアッセイ系は TH による神経系の発達を攪乱する因子のスクリーニングに有用である。

Effects of Thyroid Hormones on the Formation of Functional Neural Networks Between Cerebral Cortical Neurons: the Establishment of a Novel *in vitro* Assay System

Ritsuko Hosoda^{1,3}, Kenji Nakayama², Masahiro Kawahara^{1,3}, Yoichiro Kuroda^{1,3}

¹Department of Molecular and Cellular Neurobiology, Tokyo Metropolitan Institute for Neuroscience ²Department of Clinical Pathology, Hokkaido Institute of Public Health ³CREST, Japan Science and Technology Corporation, Japan

Thyroid hormones (THs) affect the development of CNS, and their deprivation leads to the severe mental retardation such as cretinism. Recently numerous environmental chemicals, termed endocrine disruptors, have been reported to influence endocrine systems including THs. To study the effect of endocrine disruptors on development of brain function, we established an *in vitro* assay system using rat cerebral cortical neurons by which TH-induced functional synapse formation can be estimated easily. Using this screening system, we screened many environmental chemicals, such as bisphenol A, phthalates, nonylphenol, tributyltin, amitole, permethrins, p,p'-DDT and chlordane. Cell viability of cultured neurons was also observed by WST-1 assay. Most of chemicals investigated inhibited the TH-dependent functional synapse formation at high doses. Our results suggest that this system is useful for screening miscellaneous environmental chemicals that could promote or inhibit the TH-dependent functional synapse formation.